

Aus der Klinik für Innere Medizin III - Kardiologie, Angiologie und
internistische Intensivmedizin der Universität des Saarlandes, Homburg/Saar
Direktor: Universitätsprofessor Dr. Michael Böhm

Akute Effekte des HMG-CoA-Reduktasehemmstoffs Rosuvastatin auf die Immunmodulation bei Patienten mit akutem Koronarsyndrom

Dissertation zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin
der Medizinischen Fakultät
der Universität des Saarlandes
2007

vorgelegt von
Tarek Ayadhi
geb. am: 09.03.1979
in Saarbrücken

Erklärung gem.§ 7 Abs. 1 Nr. 4 Promotionsordnung:

Ich erkläre hiermit, dass ich die vorliegende Arbeit ohne unzulässige Hilfe Dritter und ohne Benutzung anderer als der angegebenen Hilfsmittel angefertigt habe; die aus fremden Quellen direkt oder indirekt übernommenen Gedanken sind als solche kenntlich gemacht.

Bei der Auswahl und Auswertung des Materials sowie bei der Herstellung des Manuskriptes habe ich Unterstützungsleistung von folgenden Personen erhalten:

Herrn Universitätsprofessor Dr. med. G. Nickenig, Klinik und Poliklinik für Innere Medizin III der Universität des Saarlandes, Homburg.

Herrn Dr. med. A. Link, Klinik und Poliklinik für Innere Medizin III der Universität des Saarlandes, Homburg.

Weitere Personen waren an der geistigen Herstellung der vorliegenden Arbeit nicht beteiligt. Insbesondere habe ich nicht die Hilfe eines Promotionsberaters in Anspruch genommen. Dritte haben von mir weder unmittelbar noch mittelbar geldwerte Leistungen für Arbeiten erhalten, die im Zusammenhang mit dem Inhalt der vorgelegten Dissertation stehen.

Die Arbeit wurde von mir bisher weder im Inland noch im Ausland in gleicher oder ähnlicher Form einer anderen Prüfungsbehörde vorgelegt.

Homburg, den 30.07.2007

Tarek Ayadhi

Danksagung

Ich danke Herrn Universitätsprofessor Dr. med. G. Nickenig für die Überlassung des Themas und die wissenschaftliche Betreuung.

Herrn Dr. med. A. Link gilt mein besonderer Dank für seine ausgezeichnete wissenschaftliche Betreuung, seine ständige Hilfsbereitschaft und Unterstützung während der gesamten Durchführung.

Herrn Universitätsprofessor Dr. med. M. Böhm danke ich für die Möglichkeit, die vorgelegte Arbeit an der Klinik III für Innere Medizin der Universitätsklinik Homburg durchführen zu können.

Nicht zuletzt bin ich sehr dankbar für die tägliche Unterstützung und den großen Rückhalt meiner Familie.

Weiterhin möchte ich mich bei allen Mitarbeitern der Kardiologischen Laboratorien der Klinik für Innere Medizin III der Universitätsklinik Homburg für die freundliche und kollegiale Arbeitsatmosphäre bedanken.

Meinen Eltern

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung

2. Material und Methoden

2.1. Materialien

2.1.1. Verwendete Substanzen und Reagenzien

2.1.2. Verwendete Antikörper

2.1.3. Verwendete Geräte

2.2.7. Studienmedikation

2.2. Methoden

2.2.1. Ein- und Ausschlusskriterien

2.2.2. Untersuchungsablauf

2.2.3. Blutproben

2.2.4. Durchflusszytometrische Messung der intrazellulären Zytokinexpression

2.2.5. Intraplastische Zytokinbestimmung mit dem Cytometric Bead Array

2.2.6. Statistik und Auswertung

2.2.8. Statistik und Auswertung

3. Ergebnisse

3.1. Patientenkollektiv

3.2. Lipidstatus

3.3. Einfluss auf intraplastische Zytokine und Proteine

3.4. Einfluss auf die induzierbare intrazelluläre Zytokin-Expression in Monozyten

3.5. Einfluss auf die induzierbare intrazelluläre lymphozytäre Zytokin-Expression

4. Diskussion

5. Zusammenfassung

6. Literaturverzeichnis

8. Lebenslauf

Verzeichnis der verwendeten Abkürzungen:

ACE	Angiotensin-Converting-Enzyme
ACS	Acute coronary syndrome
ALT	Alaninaminotransferase
ASS	Acetylsalicylsäure
AST	Aspartataminotransferase
AT1	Angiotensin-Rezeptor Typ 1
BSA	Rinderserumalbumin
CBA	Cytometric-Bead-Array-System
CKmax	Maximal-Wert der Kreatinkinase
CRP	C-reakives Protein
EDTA	Ethylendiamintetraacetat
FACS	Fluorescence associated cell sorter
FITC	fluorescein isothiocyanate
GPIIb/IIIa-Antagonisten	Glykoprotein IIb/IIIa-Antagonisten
GTPase	Guanosintriphosphatase
HCG	human chorionic gonadotropine
HDL	High-Density-Lipoprotein
HMG-CoA-Reduktase	3-Hydroxy-3-Methylglutaryl-Coenzym- A-Reduktase
IL-(1-10)	Interleukin-(1-10)
IFN- γ	Interferon - γ
LDL	Low-Density-Lipoprotein
LPS	Lipopolysacharid-Stimulanz
NSTEMI	non-ST-elevation myocardial infarction
PE	R-phycoerythrin

PerCP	Peridinin chlorophyll protein
PFA	Paraformaldehyd
PMA	Phorbol-12-myristate-13-acetat
SEB	Staphylokokken Enterotoxin B
STEMI	ST-elevation myocardial infarction
TSH	thyreoideastimulierendes Hormon
TH1	T-Helferzell-Typ 1
TH2	T-Helferzell-Typ 2
TNF- α	Tumornekrosefaktor- α

1. Einleitung

Das Verständnis der Atherosklerose und der koronaren Herzerkrankung hat sich in den letzten Jahren gewandelt. Das klassische Konzept der kardiologischen Risikofaktoren erklärt nur teilweise den Ursprung und die Progredienz der Atherosklerose. Einen wichtigen Beitrag zu einem besseren Verständnis lieferte zunächst die Entdeckung des LDL-Rezeptors und seiner Bedeutung für die Entstehung der Atherosklerose (1). Weitere Erkenntnisse lieferte die Aufstellung der „response to injury“-Hypothese (2), die besagt, dass die Ausbildung der für die Atherosklerose charakteristischen morphologischen Veränderungen in direktem Zusammenhang mit chronischen inflammatorischen Reaktionen der Gefäßwände steht. Die stetige Schädigung der Gefäßwände z.B. bei Hypercholesterinämie oder Diabetes mellitus führt zu Endotheldefekten, wodurch es zur Anziehung, Adhäsion und Einwanderung von Monozyten und Lymphozyten in die Gefäßwand kommt (3). Daher gilt die Arteriosklerose heute als chronische Entzündungserkrankung. Die äußerste Komplikation der Arteriosklerose ist das akute koronare Syndrom (ACS), das mit hohen Morbiditäts- und Mortalitätsraten assoziiert ist (4,5). Die hier zugrundeliegende Veränderung ist ein rupturiertes atherosklerotisches Plaque, das wiederum auf eine starke inflammatorische Zelleinwanderung zurückzuführen ist. Eine Schlüsselrolle in diesem Prozess spielen Monozyten und Makrophagen, die destabilisierende Proteasen (z.B. Matrix-metalloproteasen) und inflammatorische Zytokine (z.B. Interleukin-6, Tumornekrosefaktor- α) sezernieren, sowie T-Lymphozyten, die ihrerseits inflammatorische Zytokine (Tumornekrosefaktor- α , Interferon- γ) produzieren, wodurch wiederum Makrophagen stimuliert werden und die Synthese von extrazellulärer Matrix - durch glatte Gefäßmuskelzellen - inhibiert wird (6,7,8). Letzteres wird als Th-1-Antwort bezeichnet und beschreibt das aggressive Vorgehen von T-Lymphozyten, die durch inflammatorische Zytokinproduktion (Tumornekrosefaktor- α , Interferon- γ) Gefäßzellen schädigen. Beim akuten Koronarsyndrom kommt es zu einer induzierten Th1-Antwort (9).

Folglich wäre es wünschenswert, die Atherosklerose und insbesondere das akute Koronarsyndrom nicht ausschließlich mit Medikamenten, die in die Plättchenfunktion oder die Gerinnungskaskade eingreifen, zu behandeln. Ergänzend ist eine potente antiinflammatorische Behandlung erstrebenswert. Eine entzündungshemmende Therapie mit Acetylsalicylsäure ist beim ACS seit Jahrzehnten Standard. Neuere

Untersuchungen konnten belegen, dass vor allem Patienten mit erhöhten Interleukin-6- und CRP-Werten von dieser Therapie profitieren (10).

Den ersten Beleg antiinflammatorischer Eigenschaften von HMG-CoA-Reduktase-Inhibitoren (Statine) lieferte eine retrospektive Subanalyse der CARE-Studie. Hier wurde gezeigt, dass Statine nicht nur das Risiko weiterer koronarer Ereignisse senken, sondern darüber hinaus den Blutspiegel proinflammatorischer Faktoren vermindern (11). Zwei neuere klinische Studien (MIRACL (12); PROVE IT-TIMI-22 (13)) zeigten eine Abnahme kardiovaskulärer Ereignisse bei Patienten mit akutem Koronarsyndrom, die mit einer hochdosierten Statintherapie behandelt wurden.

Die Abnahme von Koronarereignissen unter einer Statintherapie ist in den verschiedenen klinischen Studien unterschiedlich. Hierfür werden medikamentenspezifische Faktoren verantwortlich gemacht. Die verschiedenen Statine haben vergleichbare lipidsenkende Eigenschaften, wobei jedoch möglicherweise unterschiedliche sogenannte pleiotrope Wirkungen bestehen. Darunter versteht man Effekte, die sich positiv auf das jeweilige Krankheitsbild auswirken und nicht in direktem Zusammenhang mit der primären Wirkung des Medikaments - in diesem Fall der Lipidsenkung - stehen.

Sowohl In-vitro- als auch Tierversuche konnten zeigen, dass Statine ein weites Feld von immunmodulatorischen Eigenschaften besitzen. Statine sind unter anderem imstande, zirkulierende proinflammatorische Zytokine zu senken sowie die β -2-integrin-Expression (LFA-1) - sowohl in Monozyten als auch in T-Lymphozyten - zu reduzieren. Dadurch kommt es zu einer Abnahme der endothelialen Leukozytenadhäsion (14), der Matrix-Metalloproteinasen-Synthese (15) und der IFN- γ -induzierten Expression des Major-Histokompatibilitäts-Antigens Typ II auf endothelialen Zellen und Makrophagen (16, 17). Zudem wird eine Verminderung der T-Lymphozyten-Aktivierung, ihrer Zytokinproduktion und ihrer zytotoxischen Aktivität durch die Inhibition der Prenylierung von kleinen GTPasen und intrazellulären Signaltransduktionsmechanismen (18, 19, 20) erreicht.

Daher werden den Statinen zahlreiche immunmodulatorische Effekte zugesprochen. Jedoch ist es bislang unklar, ob diese Mechanismen im menschlichen Organismus und insbesondere beim akuten Koronarsyndrom eine grundlegende Rolle spielen.

Um diese Fragen zu klären, sollen in dieser prospektiven, doppel-blind-randomisierten, placebokontrollierten Studie - unter Berücksichtigung des dargelegten bisherigen Wissensstands - mögliche immunmodulatorische Effekte von

Rosuvastatin bei Patienten mit akutem Koronarsyndrom untersucht werden. Zu diesem Zweck wurden sowohl intraplasmatische Zytokinkonzentrationen als auch die intrazelluläre Zytokinexpression in Monozyten und Lymphozyten bewertet.

2. Material und Methoden

2.1. Materialien

2.1.1. Verwendete Substanzen und Reagenzien

Ampuwa (Aqua dest.), *Fresenius, Bad Homburg*

Brefeldin-A, *Sigma, Taufkirchen*

Cell-Wash, *Becton Dickinson, Heidelberg*

Cytometric-Bead-Array-System (CBA), *Becton Dickinson, Heidelberg*

Ethylendiamintetraessigsäure (EDTA), *Sigma, Taufkirchen*

FACS-Flow (Sheath Fluid for use on Flow-Cytometry), *Becton Dickinson, Heidelberg*

Ionomycin, *Sigma, Taufkirchen*

Lipopolysaccharid-Stimulanz (LPS), *Sigma, Taufkirchen*

Lysing Solution (HUMAN), *Becton Dickinson, Heidelberg*

Paraformaldehyd (PFA), *Sigma, Taufkirchen*

Phorbol 12-myristate-acetat (PMA), *Sigma, Taufkirchen*

Phosphatgepufferte Kochsalzlösung (PBS), *Sigma, Taufkirchen*

Rinderserumalbumin (BSA), *Sigma, Taufkirchen*

RPMI-Puffer, *Invitrogen, Karlsruhe*

Sodium-Acid (NaN₃), *Sigma, Taufkirchen*

Saponin, *Sigma, Taufkirchen*

Staphylokokken Enterotoxin B (SEB), *Sigma, Taufkirchen*

2.1.2. Verwendete Antikörper

CD3-FITC Antikörper, *Becton Dickinson, Heidelberg*

CD3-PERCP Antikörper (clone SK7), *Becton Dickinson, Heidelberg*

CD4-PERCP Antikörper (clone SK3), *Becton Dickinson, Heidelberg*

CD14-PEcy5 Antikörper (clone RMO52), *Beckmann/Coulter, Krefeld*

CD28- Antikörper (clone Leu-28), *Becton Dickinson, Heidelberg*

CD49d Antikörper (clone 9F10), *Becton Dickinson, Heidelberg*

CD154-PE Antikörper, *Becton Dickinson, Heidelberg*

IL-4-PE Antikörper (clone 8D4-8), *Becton Dickinson, Heidelberg*

IL-6-PE Antikörper (clone MQ2-13A5), *Becton Dickinson, Heidelberg*

Interferon-gamma-FITC Antikörper (clone 4S.B3), *Becton Dickinson, Heidelberg*

Interferon-gamma-PE Antikörper (clone 4s.B3), *Becton Dickinson, Heidelberg*

Tumornekrosefaktor- α -FITC-Antikörper(clone MAb11),*Becton Dickinson, Heidelberg*

2.1.3. Verwendete Geräte

- FACSCalibur (Fluorescence-associated-cell-sorter), *Becton Dickinson*
- Feinwage Acculab, *Sartorius Group*
- Gefrierschränke: -Economic Froster, *Bosch*
-Ecu 7085-5, *Profiline*
- Kelvtron T Inkubator, *Heraeus Instruments*
- Scottsman MF22, *Frimont (automatic Ice Machine)*
- Pipetten: -*Pasteur Capillary Pipettes 150mm*
-*Eppendorf (10 μ l, 20 μ l, 100 μ l, 1ml)*
-*Greiner Bio-one (10ml, 20ml)*
- Vortex Mixer 2019R, *Ncolab*
- Zentrifugen: -Biofuge Pico, *Haereus Instruments*
-Megafuge 1.0, *Haereus sepatech*
-Laborfuge 400R Functio Line, *Haereus Instruments*
-Universal 16R, *Hettich Zentrifugen*

2.2. Methoden

2.2.1. Ein- und Ausschlusskriterien

Die Patienten-Zielpopulation bestand aus männlichen und weiblichen Patienten im Alter zwischen 18 und 80 Jahren bei denen eine perkutane Koronarintervention aufgrund eines akuten Koronarsyndroms mit Troponin-positiver, instabiler Angina pectoris oder mit NSTEMI (Myokardinfarkt ohne ST-Erhöpfung) oder mit STEMI (Myokardinfarkt mit ST-Erhöpfung) durchgeführt wurde.

Folgende Patienten sind von der Studie ausgeschlossen worden:

- Akutes Koronarsyndrom mit Troponin-negativer instabiler Angina pectoris oder mit kardiogenem Schock
- Interventionen mit Ausnahme einer perkutanen Koronarintervention
- Einnahme cholesterinsenkender Medikamente innerhalb der letzten 2 Wochen vor Studienbeginn
- Hypersensitivität gegenüber HMG-CoA-Reduktase-Inhibitoren in der Anamnese
- Schwangere oder stillende Frauen und Frauen im gebärfähigen Alter, die keine Schwangerschaftsverhütung betreiben oder wenn ein positiver β -HCG-Test vorliegt
- Maligne Tumoren in den letzten 10 Jahren mit Ausnahme eines Basalzellkarzinoms
- Diabetes mellitus
- Unkontrollierter Hyperthyreoidismus ($TSH > 1,5 \times$ oberer Normalwert bei Visite 1) oder Patienten mit Thyroxin-Ersatztherapie, die in den letzten 3 Monaten begonnen wurde
- Homozygote, familiäre Hypercholesterinämie oder bekannte Typ III Hyperlipidämie in der Anamnese
- Gleichzeitige Einnahme von bestimmten Medikamenten: Clarithromycin, Erythromycin, Sulfisoxazole, Rifampicin, Fluconazol, Ketokonazol, Itrakonazol, Medikation gegen Magenulzera, Cisaprid, Digoxin, Antihistaminika, Astemizol, Terfenadin, Orlistad, Niacin, Nikotinsäure,

Probucol, Clofibrat, Cholestyramin, Colestipol, Fenofibrat, Gemfibrozil, Atorvastatin, Lovastatin, Pravastatin, Simvastatin, Cerivastatin, Fluvastatin, Fischöl sowie jegliche immunmodulierende Therapie

- Alkohol- oder Drogenmissbrauch in der Anamnese
- Lebererkrankungen oder Leberfunktionsstörungen (definiert als 1,5× Erhöhung des oberen Normalwerts von ALT,AST oder Bilirubin) bei Visite 1
- Unerklärbare Serumkreatininerhöhung (>3× des oberen Normwertes) bei Visite 1
- Serumkreatinin > 3,0 mg/dl
- Teilnahme an einer klinischen Prüfung innerhalb der letzten 30 Tage vor Randomisierung
- Ernsthafte medizinische oder psychische Erkrankungen, die nach Meinung des Prüfarztes die Sicherheit oder die erfolgreiche Teilnahme des Patienten gefährden
- Vorherige Randomisierung in diese Studie

2.2.2. Untersuchungsablauf

Es wurden 35 Patienten mit akutem Koronarsyndrom, in deren bisheriger Medikation keine cholesterinsenkenden Medikamente enthalten waren (einschließlich Lipidsenker, Nahrungsergänzungsmittel, Lebensmittelzusatzstoffe in den letzten 2 Wochen), in eine doppel-blinde, placebokontrollierte, monozentrische Studie eingeschlossen und randomisiert. Sie erhielten über einen Zeitraum von 6 Wochen einmal täglich 20mg Rosuvastatin oder Placebo per os. Primäre Endpunkte waren Änderungen der Immunantwort wie z.B. die intrazelluläre Zytokin-Expression in Monozyten und Lymphozyten. Es wurden jeweils an vier Zeitpunkten Untersuchungen durchgeführt. Nach Einschluss und Randomisierung des jeweiligen Patienten wurden noch vor Gabe der Medikation, Blutproben zur Untersuchung der klinischen Chemie, der Hämatologie und immunologischer Marker entnommen. Nach 24 Stunden, 72 Stunden und 6 Wochen wurden weitere Blutproben zur Analyse der klinischen Chemie, Hämatologie und immunologischer Marker entnommen. Die Studie wurde in Übereinstimmung mit den ethischen Prinzipien der Deklaration von Helsinki und im Einverständnis aller zuvor aufgeklärten Patienten durchgeführt. Das

Studienprotokoll wurde von der Ethischen Kommission der Universität des Saarlandes genehmigt.

2.2.3. Blutproben

Bei jeder Visite wurden 20 ml Heparinblut und 10 ml EDTA-Blut über eine venöse Kanüle entnommen.

2.2.4. Durchflusszytometrische Messung der intrazellulären Zytokinexpression

Die heparinisierten Blutproben wurden mit Lipopolysaccharid (100ng/ml LPS; Sigma, Deutschland) für die monozytäre Zytokin-Expression, mit *Staphylococcus aureus* Enterotoxin B (2,5 µg/ml SEB) in Gegenwart von CD28 (clone Leu-28; BD Pharmingen; Deutschland) und CD49d (clone 9F10; BD Pharmingen) für die CD3-T-Lymphozyten-Zytokin-Expression oder mit Phorbol-12-Myristat-13-Acetat (PMA; Sigma) und Ionomycin (Sigma) für die CD-4-Lymphozyten-Zytokin-Expression, stimuliert. Die Zellen wurden in Polypropylenröhrchen über einen Gesamtzeitraum von 6 Stunden bei 37°Celsius inkubiert. Zur Hemmung der extrazellulären Zytokinsekretion wurde für die letzten 4 Stunden der Inkubation 10µg/ml Brefeldin A (Sigma) hinzugefügt. Anschließend wurden die Zellen mit EDTA für die geplante monozytäre und lymphozytäre Zytokinmessung und mit Paraformaldehyd 4% für die geplante Zytokinmessung der CD-4-Zellen fixiert. Die Erythrozyten wurden in Übereinstimmung mit der Produkthanleitung mit Lysing Solution (BD Pharmingen) 10 Minuten lysiert. Die Zellmembranen wurden nun mit 0,1% Saponin (Sigma) in PBS mit 5% Milchpulver und 0,1% bovinem Serumalbumin (BSA; Sigma) reversibel permeabilisiert. Zelluläre Oberflächenmarker und intrazelluläre Zytokine wurden in Permeabilisations-Puffer mit fluoreszenzfarbstoffkonjugierten mouse-anti-human-Antikörpern gekennzeichnet. Zur Färbung der zellulären Oberflächenmarker wurde für Monozyten ein PE-Cy5-markierter anti-CD14-Antikörper (clone RMO52, Beckmann/Coulter, Deutschland), für Lymphozyten ein PerCP-markierter anti-CD3-Antikörper (clone SK7, BD Pharmingen, Deutschland) und für T-Helferzellen (Th-Zellen) ein PerCP-markierter anti-CD4-Antikörper (clone SK3, BD Pharmingen)

verwendet. Zur Färbung der intrazellulären Zytokine wurden für die monozytären intrazellulären Zytokine FITC-markierte anti-TNF- α -Antikörper (clone MAb11, BD Pharmingen) und PE-markierte anti-IL6-Antikörper (clone MQ2-13A5, BD Pharmingen), für lymphozytäre intrazelluläre Zytokine FITC-markierte anti-TNF- α -Antikörper (clone MAb11, BD Pharmingen) sowie PE-markierte anti-IFN- γ -Antikörper (clone 4s.B3, BD Pharmingen), für T-Helfer-Zellen FITC-markierte anti-IFN- γ -Antikörper (clone 4S.B3, BD Pharmingen) und PE-markierte anti-IL4-Antikörper (clone 8D4-8, BD Pharmingen) verwendet. Nach einer 45-minütigen Inkubation bei 4°C wurden die Zellen dreimal in Permeabilisationspuffer und zweimal in FACS-Puffer gewaschen. Anschließend wurden die gefärbten Antigene mit 1% Paraformaldehyd-Lösung fixiert. Die Messungen wurden an einem Becton Dickinson FACScan-flow-Zytometer und mit dem Cellquest-Software-System durchgeführt.

2.2.6. Statistik und Auswertung

Gemäß dem explorativen Charakter dieser Studie wurde hauptsächlich die deskriptive Statistik zur Auswertung der Daten angewandt. Für alle primären Endpunkte (immunologische Marker) wurden die folgenden statistischen Parameter errechnet: Median, die Werte der 25. und 75. Perzentile und die prozentuale Änderung des Ausgangswertes nach 24 Stunden, 72 Stunden und 42 Tagen. Die Größe der Versuchspopulation wurde zur Null-Hypothese errechnet, dass Rosuvastatin und Placebo keine Differenz bezüglich der primären Endpunkte aufweisen. Eine Probengröße von 17 Patienten in jeder Gruppe wurde unter der Annahme einer Power von 80% und einem zweiseitigen Konfidenzintervall zum Konfidenzniveau 0.95 evaluiert. Zusätzlich wurde der U-Test für unabhängige Stichproben und der Wilcoxon-Rank-Sum-Test für abhängige Stichproben verwendet. Das Signifikanzniveau wurde auf $p < 0,05$ festgelegt.

3. Ergebnisse

3.1. Patientenkollektiv

Die unter 2.2. beschriebenen Untersuchungen wurden an 35 Patienten mit einem akuten Koronarsyndrom mit Troponin-positiver instabiler Angina pectoris, mit NSTEMI oder mit STEMI und angiographisch dokumentiertem koronararteriellen Krankheitsbefund zwischen dem 09.12.2002 und dem 14.04.2004 durchgeführt. Nach Randomisierung erhielten die Patienten Rosuvastatin 20 mg/d (n=18) oder Placebo (n=17). Es gab keine Unterschiede in beiden Gruppen bezüglich des Alters (Rosuvastatin-Gruppe 55.5 (48.0 - 69.0) vs. Placebo-Gruppe 60.0 (51.0 - 69.5) Jahre), des Geschlechts, der Infarktgröße gemessen am Maximum der Kreatinkinase 872 (180.8 -2837.5) vs. 787 (320.8 -1478.0) U/l und der zusätzlichen Standardtherapie des akuten Koronarsyndroms. (Tabelle 1)

	Placebo-Gruppe	Rosuvastatin-Gruppe	p-Wert
N	17	18	n.s.
Alter (Jahre)	60 (51.0, 69.5)	55.5 (48.0, 69.0)	n.s.
Männer /Frauen (n / n)	11 / 6	12 / 6	n.s.
Cholesterin	208 (190.0, 219.0)	201 (178.0, 235.0)	n.s.
LDL-Cholesterin	134 (115.3, 144.4)	134 (103.9, 143.8)	n.s.
HDL-Cholesterin	39 (33.7, 47.3)	43 (38.9, 46.9)	n.s.
Triglyzeride	143 (121.2, 211.8)	118 (90.0, 177.0)	n.s.
Nicht-ST-Hebungs-Infarkt (NSTEMI)	10	12	n.s.
ST-Hebungs-Infarkt (STEMI)	7	6	n.s.
Infarktgröße (CKmax U/l)	787 (320.8, 1478.0)	872 (180.8, 2837.5)	n.s.
Ejektionsfraktion (%)	58 (38.2, 72.0)	59 (36.2, 68.5)	n.s.
GPIIb/IIIa-Antagonisten(n)	8	11	n.s.
ASS (n)	17	18	n.s.
Clopidogrel (n)	17	17	n.s.
β-Blocker (n)	17	18	n.s.
ACE-Inhibitoren (n)	17	17	n.s.

Tabelle 1: Grundlegende Charakteristika beider Behandlungsgruppen: Alter, Geschlecht, Lipidprofil, Infarktgröße, Zusatztherapie. Die Ausgangswerte zeigen keine signifikanten (n.s.) Unterschiede zwischen der Placebo- und der Rosuvastatin-Gruppe. Die Parameter wurden als Median und Messwert der 25. und 75. Perzentile oder als Nominaldaten beschrieben.

3.2. Lipidstatus

Die Ausgangswerte in beiden Gruppen waren equivalent für Gesamtcholesterin 201 (178.0 -235.0) zu 208 (190.0 - 219.0) mg/l, LDL-Cholesterin 134 (103.9-143.8) zu 134 (115.3 - 144.4) mg/l, HDL-Cholesterin 43 (38.9 – 46.9) zu 39 (33.7 – 47.3) mg/l und Triglyzeride 118 (90.0 – 177.0) zu 143 (121.2 – 211.8) mg/l. Sowohl die Werte für Gesamtcholesterin als auch LDL-Cholesterin blieben im Verlauf der Untersuchung konstant in der Plazebo-Gruppe, während Rosuvastatin das Gesamtcholesterin und LDL-Cholesterin innerhalb von 72 Stunden auf 193.5 (179.0 – 216.0) mg/l und nach 6 Wochen auf 154.0 (132.0 – 179.0) mg/l herabsetzte. Das LDL-Cholesterin wurde innerhalb von 72 Stunden durch die Statintherapie auf 135.0 (111.0 – 158.0) mg/l und nach 6 Wochen auf 75.5 (56.0 – 93.5) mg/l reduziert. Es ergaben sich keine signifikanten Veränderungen in den ersten 24 Stunden. Sowohl das HDL-Cholesterin als auch die Triglyzeride wurden durch Placebo nicht signifikant beeinflusst, während Rosuvastatin das HDL-Cholesterin signifikant von 43.3 (38.9 – 46.9) auf 49.0 (44.5 – 56.0) mg/l nach 6 Wochen erhöhte.

3.3. Wirkung auf intraplasmatische Zytokine und Proteine

Rosuvastatin reduzierte IFN- γ (124 (90.2 – 155.7) zu 74 (30.9 – 126.6) pg/l; $p < 0.05$) und TNF- α (4 (3.9 – 4.7) zu 3 (2.2 – 4.1) pg/l; $p < 0.05$) innerhalb von 24 Stunden (Abbildung 3). Diese Verminderung bestätigte sich über 6 Wochen. Im Gegensatz hierzu blieben die Plasmakonzentrationen dieser Zytokine in der Placebogruppe unverändert oder sanken erst nach 72 Stunden, um nach 42 Tagen auf Normwerte zurückzukehren. Rosuvastatin führte zu einer signifikanten Abnahme von IL-6 nach 3 und 42 Tagen. In beiden Gruppen sanken die jeweiligen IL-6-Konzentrationen Schritt für Schritt nach 3 und 42 Tagen (Abbildung 4). Es konnte keine schnelle Interaktion zwischen Rosuvastatin und C-Reaktivem-Protein festgestellt werden. Allerdings kam es nach 42 Tagen zu einem signifikanten CRP-Abfall in der Rosuvastatin-Gruppe sowie zu einer Blockierung des in der Placebo-Gruppe beobachteten Anstiegs des CRP-Wertes in den ersten 3 Tagen (Abbildung 4). Die Plasmakonzentrationen der antiinflammatorischen Zytokine IL-4 und IL-10 blieben unverändert (Tabelle 2).

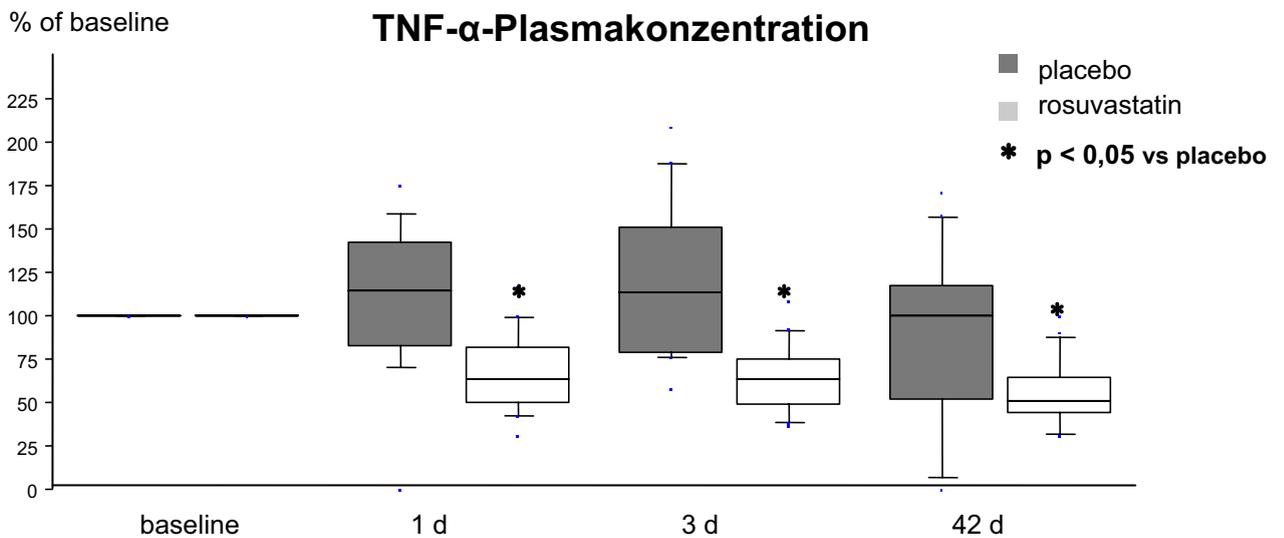
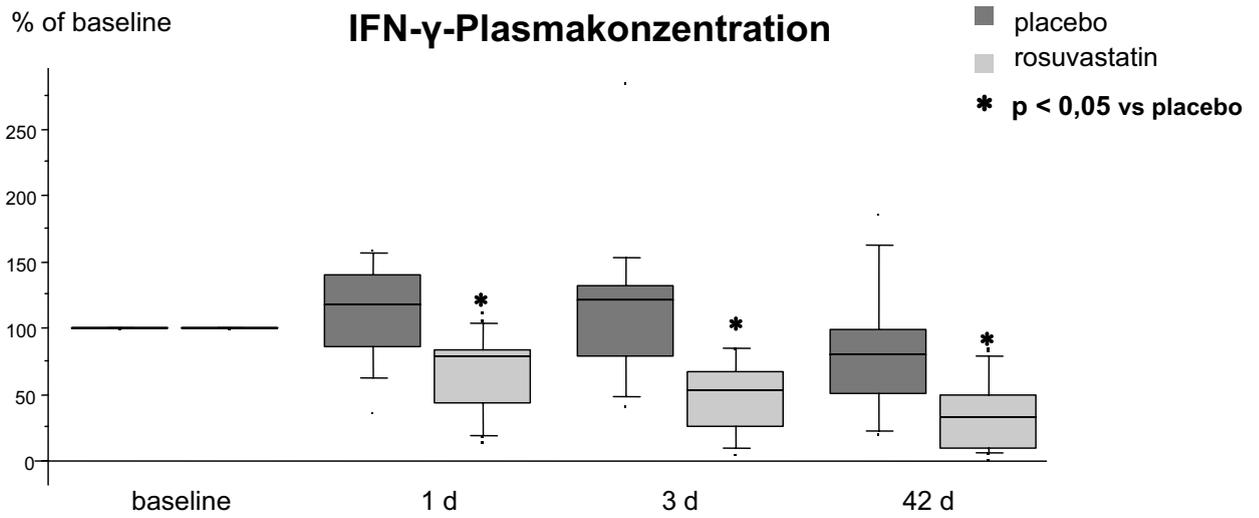
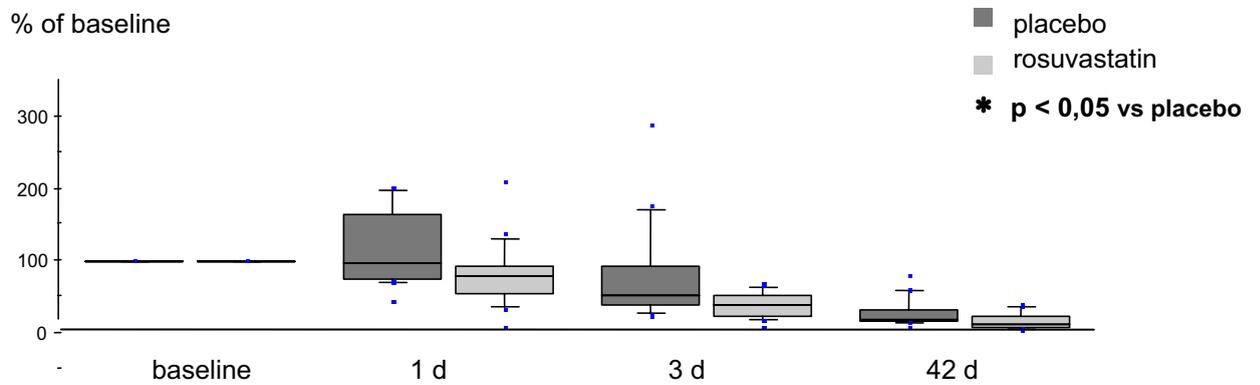


Abb. 3: Relative Änderungen der Plasmakonzentrationen der proinflammatorischen Zytokine Interferon- γ (IFN- γ) und Tumornekrosefaktor- α (TNF- α) während einer 42-tägigen Therapie mit Rosuvastatin oder Placebo.

IL-6-Plasmakonzentration



CRP-Plasmakonzentration

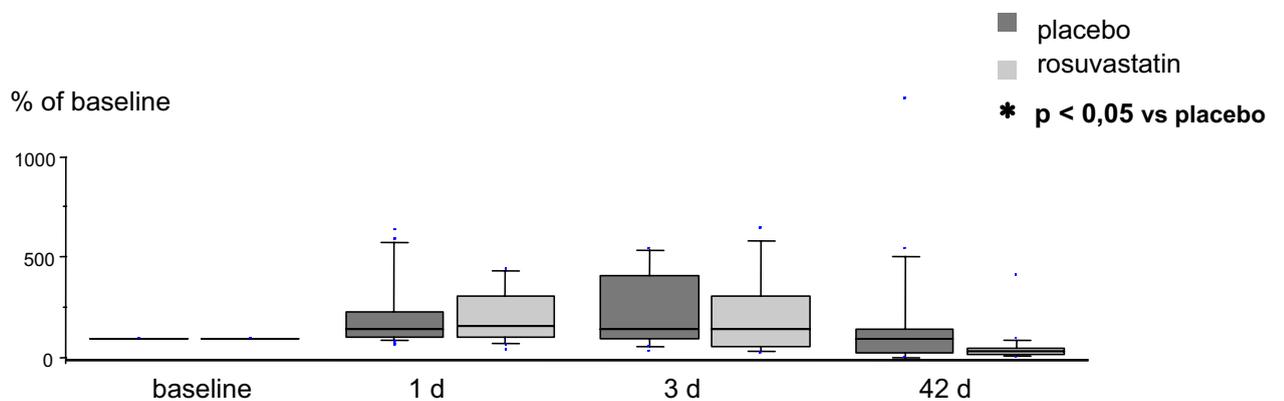


Abb. 4: Relative Änderungen der Plasmakonzentrationen des proinflammatorischen Zytokins Interleukin-6 (IL-6) und des C-reaktiven Proteins (CRP) während einer 42-tägigen Therapie mit Rosuvastatin oder Placebo.

3.4. Einfluss auf die induzierbare intrazelluläre monozytäre Zytokin-Expression

Die monozytäre Aktivität wurde nach einer In-vitro-Stimulation mit Lipopolysaccharid (LPS) untersucht. Die induzierbare intrazelluläre Zytokin-Expression von IL-6 und TNF- α in Monozyten wurde mithilfe der Immunfluoreszenzfärbung und Durchflusszytometrie gemessen. Die Ausgangsdaten zeigten das 18 (8.5-35.6) % der Monozyten in der Rosuvastatin-Gruppe und 31 (21.2 – 43.7) % in der Placebo-Gruppe (n.s.) fähig waren IL-6 zu produzieren. Allerdings konnten keine signifikanten Einflüsse von Placebo oder Rosuvastatin im Verlauf der Untersuchung festgestellt werden (Tabelle 2).

3.5. Einfluss auf die induzierbare intrazelluläre lymphozytäre Zytokin-Expression

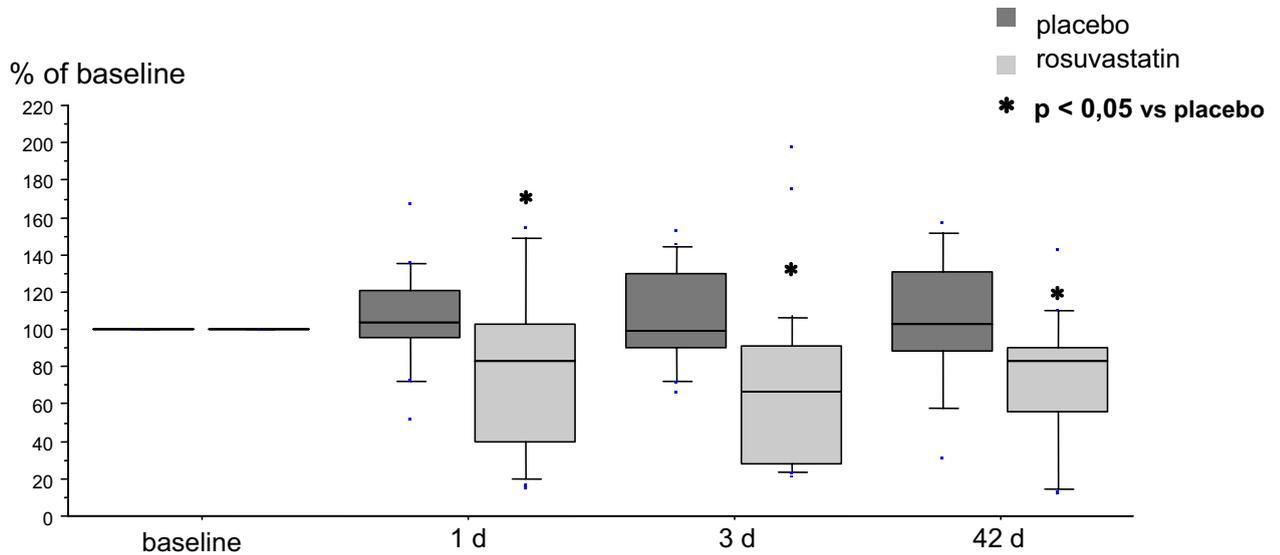
Die Zytokin-Expression der T-Lymphozyten wurde mittels zwei verschiedener Methoden induziert: erstens Aktivierung der T-Zellen durch Superantigen-vermittelte (Staphylokokken Enterotoxin B, SEB) Vernetzung des T-Zell-Rezeptors und Major-Histokompatibilitäts-Komplex-II-Rezeptors und zweitens Aktivierung der T-Zellen durch PMA/Ionomycin, wodurch verschiedene intrazelluläre Transkriptionsfaktoren induziert werden.

Die Grundstimulation mit SEB induzierte eine IFN- γ -Produktion in 5 (2.6 – 11.7) % der CD3-T-Zellen in der Rosuvastatin-Gruppe und in 3 (2.5 – 5.4) % in der Placebo-Gruppe (n.s.). Während der Rosuvastatinbehandlung kam es zu einer schnellen und signifikanten Abnahme der IFN- γ -produzierenden Lymphozyten auf 3 (1.9 – 5.1) % innerhalb von 24 Stunden ($p < 0.05$) (Abbildung 5, Tabelle 2). Es konnten gleichartige Ergebnisse mit einer signifikanten Abnahme der SEB-induzierten TNF- α -Produktion in CD3-T-Zellen in der Rosuvastatin-Gruppe gefunden werden 10 (6.6 – 18.3) % vs. 6 (4.4 – 9.6) %; $p < 0.05$ (Abbildung 5, Tabelle 2).

Die Grundfrequenz der IFN- γ -Produktion in CD4-T-Zellen war 34 (23.9 – 48.6) % in der Rosuvastatin-Gruppe und 24 (20.9 – 37.3) % in der Placebo-Gruppe (n.s.). In der Verum-Gruppe ergab sich auch eine signifikante Abnahme der IFN- γ -produzierenden Lymphozyten (34 (23.9 – 48.6) % vs. 26 (18.1 – 38.3) %) innerhalb von 24 Stunden ($p < 0.05$) (Th-1-Immunantwort) (Abbildung 6, Tabelle 2). Dieser Effekt bestätigte sich über 42 Tage. Vor Behandlungsbeginn konnte in 4% der CD4-positiven T-Zellen eine

PMA/Ionomycin-induzierte IL-4-Produktion (Th-2-Immunantwort) festgestellt werden. In der Statin-Gruppe kam es nach 72 Stunden zu einem Rückgang der Th2-Immunantwort (Abbildung 6, Tabelle 2).

Induzierbare IFN- γ -Expression in Lymphozyten



Induzierbare TNF- α -Expression in Lymphozyten

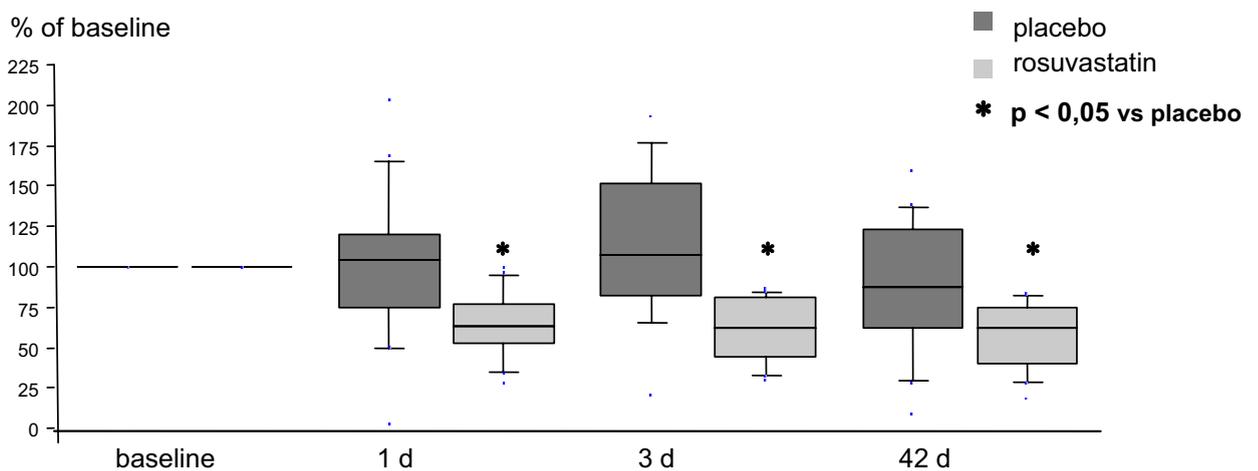
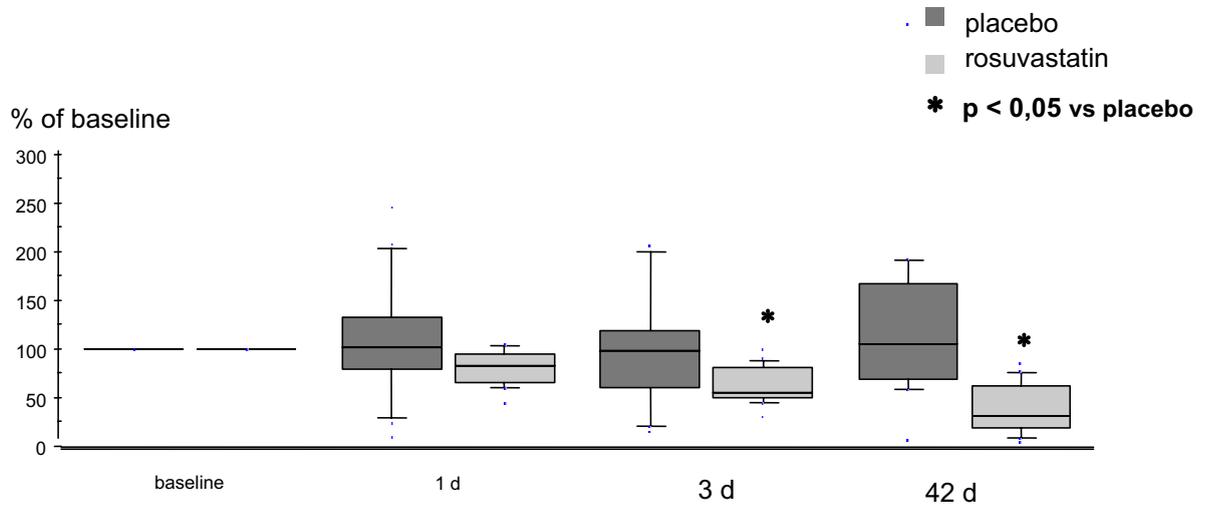


Abb. 5 Relative Änderungen zu den Ausgangswerten der induzierbaren intrazellulären Zytokin-Expression in T-Lymphozyten während einer 42-tägigen Therapie mit Rosuvastatin oder Placebo. Nach der Stimulation mit Staphylokokkenenterotoxin B (SEB), wurde die induzierbare intrazelluläre Zytokin-Expression von Interferon- γ (IFN- γ) und Tumornekrosefaktor- α (TNF- α) gemessen.

Th-1-Immunantwort



Th-2- Immunantwort

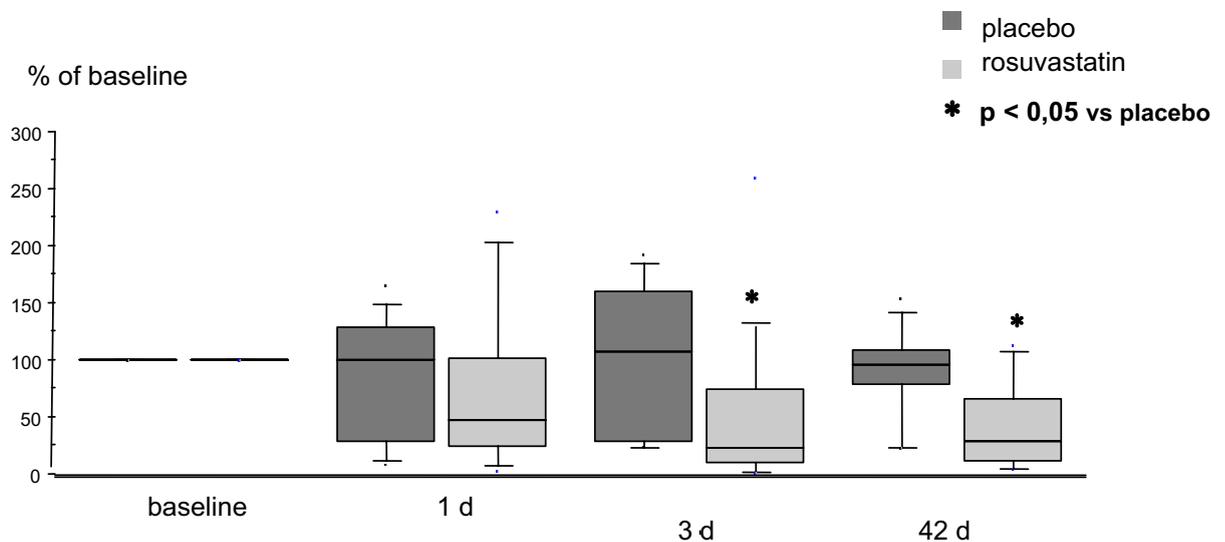


Abb. 6 Relative Änderungen zu den Ausgangswerten der induzierbaren intrazellulären Zytokin-Expression in T-Helferzellen (Th-Zellen) während einer 42-tägigen Therapie mit Rosuvastatin oder Placebo. Nach einer 42-tägigen Stimulation mit PMA/Ionomycin wurde die induzierbare intrazelluläre Zytokin-Expression von Interferon- γ (IFN- γ), Th-1-Immunantwort, und Interleukin-4 (IL-4), Th-2-Immunantwort gemessen.

Zeit (Tage)	Placebo-Gruppe				Rosuvastatin-Gruppe			
	0	1 d	3 d	42 d	0	1 d	3 d	42 d
Monozyten								
▲ Absolute Zahl (10 ⁹ /l)	8 (5.0, 10.0)	8 (5.0, 9.3)	8 (6.5, 8.3)	7 (6.0, 8.3)	8 (6.0, 12.0)	8 (7.0, 10.0)	8 (7.0, 9.0)	8 (7.0, 9.0)
▲ relative Änderungen (%)	100	120 (100.0, 133.3)	100 (87.5, 135.0)	100 (87.5, 122.1)	100	100 (100.0, 114.3)	100 (83.3, 116.7)	100 (75.0, 133.3)
Lymphozyten								
▲ Absolute Zahl (10 ⁹ /l)	21 (14.5, 28.3)	21 (15.8, 27.0)	25 (21.0, 28.3)	31 (24.5, 37.5)	21 (12.0, 29.0)	21 (13.0, 29.09)	22 (16.0, 28.0)	29 (25.0, 34.0)
▲ relative Änderungen (%)	100	100 (85.7, 118.6)	107 (100.0, 151.4)	130 (106.4, 198.6)	100	100 (92.0, 106.3)	100 (92.0, 118.8)	160
IFN-γ								
▲ absolute Menge (pg/l)	67 (29.9, 128.8)	105 (31.8, 118.79)	75 (49.6, 141.9)	39 (22.3, 91.8)	124 (90.2, 155.7)	74 (30.9, 126.6)	41 (24.2, 106.1)	30 (8.6, 50.8)
▲ relative Änderungen (%)	100	118 (86.1, 140.1)	121 (78.7, 131.7)	80 (50.9, 99.1)	100	79 (43.5, 84.3)	53 (26.6, 67.3)	33 (9.5, 49.9)
IL-6								
▲ absolute Menge (pg/l)	19 (13.8, 30.5)	22 (17.4, 35.3)	12 (8.9, 18.4)	4 (2.9, 6.4)	36 (28.4, 45.2)	20 (15.5, 43.6)	13 (7.8, 18.6)	4 (3.1, 8.4)
▲ relative Änderungen (%)	100	97 (73.5, 163.1)	52 (39.4, 91.5)	18 (15.9, 31.5)	100	79 (54.1, 91.6)	40 (22.4, 51.6)	12 (8.2, 23.2)
TNF-α								
▲ absolute Menge (pg/l)	2 (1.6, 4.2)	3 (2.2, 4.2)	3 (2.4, 4.1)	2 (1.5, 3.5)	4 (3.9, 4.7)	3 (2.2, 4.1)	2 (1.8, 3.7)	2 (1.7, 2.6)
▲ relative Änderungen (%)	100	114 (82.8, 142.3)	113 (78.5, 150.8)	100 (51.8, 116.9)	100	63 (50.1, 81.5)	64 (48.9, 75.4)	51 (43.9, 64.1)
IL-4								
▲ absolute Menge (pg/l)	6 (3.3, 11.7)	6 (4.0, 10.6)	11 (9.1, 16.4)	7 (3.7, 12.7)	6 (3.2, 11.9)	13 (7.8, 16.99)	8 (5.9, 10.2)	4 (2.8, 9.1)
▲ relative Änderungen (%)	100	145 (85.5, 166.9)	195 (106.5, 451.8)	65 (50.0, 87.1)	100	186 (100.3, 210.2)	112 (73.6, 195.4)	98 (49.5, 132.7)
IL-10								
▲ absolute Menge (pg/l)	4 (2.8, 6.4)	5 (3.4, 7.7)	4 (3.4, 7.3)	3 (2.2, 4.5)	3 (2.1, 5.0)	5 (3.2, 5.7)	2 (1.7, 6.2)	3 (1.9, 5.6)
▲ relative Änderungen (%)	100	120 (100.0, 128.6)	89 (7.6, 129.6)	70 (46.7, 86.7)	100	120 (84.9, 163.8)	95 (53.7, 134.6)	95 (62.8, 102.9)
C-reactives Protein								
▲ absolute Menge (mg/l)	11 (5.1, 45.8)	18 (12.0, 58.9)	33 (11.7, 46.4)	3 (3.0, 20.3)	11 (6.4, 38.9)	20 (16.6, 82.7)	18 (11.3, 92.5)	3 (3.0, 3.9)
▲ relative Änderungen (%)	100	147 (101.6, 232.8)	143 (96.3, 408.3)	100 (23.1, 143.7)	100	156 (101.1, 305.1)	144 (55.1, 305.9)	31 (13.8, 46.9)
Induzierbares IL6 in Monozyten								
▲ (%)	31 (21.2, 43.7)	25 (18.8, 39.9)	28 (19.5, 37.5)	27 (18.9, 59.3)	18 (8.5, 35.6)	22 (14.6, 38.4)	23 (11.7, 34.7)	48 (27.8, 63.1)
▲ relative Änderungen (%)	100	116 (64.9, 158.5)	84 (57.1, 192.9)	136 (75.3, 174.8)	100	111 (55.2, 250.4)	112 (64.2, 153.5)	331 (99.0, 670.1)
Induzierbares TNFα in Monozyten								
▲ (%)	53 (43.6, 63.9)	48 (39.1, 55.0)	50 (38.3, 60.4)	72 (59.2, 75.9)	47 (22.6, 63.6)	38 (34.5, 63.7)	57 (28.3, 67.2)	71 (62.4, 77.4)
▲ relative Änderungen (%)	100	94 (70.4, 114.6)	94 (63.9, 127.9)	130 (108.8, 162.4)	100	98 (78.6, 124.2)	96 (83.1, 137.0)	135 (99.0, 407.3)
Induzierbares IFNγ in Lymphozyten								
▲ (%)	3 (2.5, 5.4)	4 (2.7, 5.4)	4 (2.6, 5.3)	3 (2.7, 4.9)	5 (2.6, 11.7)	3 (1.9, 5.1)	3 (2.2, 3.6)	3 (1.9, 4.3)
▲ relative Änderungen (%)	100	104 (95.3, 120.9)	99 (89.8, 129.7)	102 (88.1, 130.4)	100	83 (40.1, 102.7)	67 (28.2, 90.8)	82 (55.8, 90.2)
Induzierbares TNFα in Lymphozyten								
▲ (%)	7 (4.4, 8.5)	7 (4.6, 9.7)	6 (5.1, 12.4)	5 (4.1, 7.4)	10 (6.6, 18.3)	6 (4.4, 9.6)	6 (5.2, 6.4)	5 (3.9, 7.4)
▲ relative Änderungen (%)	100	104 (74.5, 120.0)	107 (81.8, 151.4)	87 (61.8, 122.8)	100	63 (52.8, 77.1)	62 (44.4, 81.49)	63 (39.6, 74.9)
Induzierbares IFNγ Th-Zellen								
▲ (%)	24 (20.9, 37.3)	26 (21.8, 36.4)	24 (12.9, 36.8)	29 (22.9, 39.1)	34 (23.9, 48.6)	26 (18.1, 38.3)	22 (13.6, 27.1)	13 (5.3, 17.4)
▲ relative Änderungen (%)	100	102 (80.1, 132.2)	98 (59.6, 119.3)	104 (68.7, 166.6)	100	83 (65.3, 94.6)	56 (50.2, 81.2)	31 (18.9, 62.3)
Induzierbares IL4 in Th-Zellen								
▲ (%)	3 (1.4, 3.4)	2 (0.3, 2.8)	3 (0.8, 3.4)	2 (0.5, 2.6)	4 (1.2, 4.9)	2 (0.8, 4.1)	1 (0.1, 3.5)	1 (0.2, 2.3)
▲ relative Änderungen (%)	100	101 (29.2, 128.9)	106 (28.7, 159.9)	96 (78.5, 108.4)	100	48 (24.9, 102.1)	23 (10.0, 74.7)	29 (11.6, 66.0)

Tabelle 2: Gemessene immunologische Parameter, absolute Werte und relative Änderungen zu den Ausgangswerten; alle Parameter wurden als Median und Messwert der 25. und 75. Perzentile beschrieben: Monozyten, Lymphozyten, Interferon-γ (IFN-γ), Interleukin-6 (IL-6), Tumornekrosefaktor-α (TNF-α), Interleukin-4 (IL-4), Interleukin-10 (IL-10), C-reactives Protein, induzierbare Zytokin-Expression in Monozyten und Lymphozyten und die T-Helferzellsubpopulation.

4. Diskussion

Statine sind weit verbreitete cholesterinsenkende Medikamente die günstige Auswirkungen in verschiedenen Patientengruppen zeigen. Studien in großen Maßstäben konnten belegen, dass sowohl Individuen mit normalen oder erhöhten Cholesterinwerten als auch Patienten mit und ohne manifester Atherosklerose von einer Statintherapie profitieren. Die meisten dieser Studien bezogen sich auf eine Langzeitbehandlung von Patienten mit stabiler Angina pectoris (21, 22, 23, 24).

Ursprünglich wurden für die Abnahme der Morbiditäts- und Mortalitätsraten die lipidsenkenden Eigenschaften der Statine verantwortlich gemacht (24). Allerdings zeigten multiple In-vitro-Versuche, Tierversuche und Studien am Menschen, dass zumindest ein Teil dieser günstigen Auswirkungen über cholesterinunabhängige Mechanismen hervorgerufen werden. Durch die Hemmung der HMG-CoA-Reduktase kommt es nicht nur zur Verminderung der Cholesterinbiosynthese, sondern auch zur Reduktion vieler zusätzlicher Intermediärstoffe. Diese Faktoren - wie z.B. Geranylpyrophosphat - sind in ein weites Feld von zellulären Ereignissen involviert. Somit erscheint es denkbar, dass Statine neben der Cholesterinsenkung zusätzliche Effekte ausüben (25). In diesem Zusammenhang wurden z.B. die erhöhte Stickstoffmonoxidbioverfügbarkeit, die Abnahme von oxidativem Stress, die verminderte Expression des AT1-Rezeptors sowie die vermehrte Mobilisation von endothelialen Progenitorzellen genannt (26, 27, 28). Viele dieser Untersuchungen richteten ihr Augenmerk auf den Effekt von Statinen auf Gefäßzellen, da die Atherosklerose in erster Linie den Gefäßwänden zugeordnet wird. Darüber hinaus ist allgemein bekannt, dass die Atherosklerose einer systemischen inflammatorischen Erkrankung ähnelt (3). Daher waren Untersuchungsergebnisse, die unterschiedliche tiefgreifende immunmodulatorische Effekte auf zirkulierende Monozyten und Lymphozyten hervorbrachten, von speziellem Interesse (16, 17). Diese Medikamente führen zu vielfältigen Veränderungen in inflammatorischen Zellen, wie z.B. zur Verminderung der Zytokine und der Adhäsionsmoleküle. Die meisten dieser Ergebnisse leiteten sich von Studien mit isolierten Zellen oder von Tierversuchen ab. In Übereinstimmung hiermit ergab sich, dass Statine die globalen Entzündungsmarker, wie z.B. das hoch sensitive C-reaktive-Protein und Zytokine bei verschiedenen Patientengruppen supprimieren (29, 30). Nichtsdestotrotz waren

diese Studien nicht in der Lage zu unterscheiden, ob diese antiinflammatorischen Effekte auf vaskulären Heilungsprozessen oder einer direkten Wirkung der Statine auf zirkulierende weiße Blutkörperchen basieren. Weitere Einblicke in die Wirkungsmechanismen lieferten Studien, die demonstrierten, dass Statine bei Tieren mit autoimmuner Myokarditis (31), bei Patienten mit chronischer Graft-versus-Host-Erkrankung (32) und bei Patienten mit akutem Koronarsyndrom (33) das Immunsystem durch Verminderung der Th1-Immunantwort beeinflussen. Allerdings konnten diese Studien kleinen Umfangs keine vermeintlich akuten Effekte differenzieren und waren daher auch nicht vorgesehen, um potenzielle lipidunabhängige Effekte nachzuweisen.

Patienten mit akutem Koronarsyndrom weisen ein sehr hohes Risiko für unmittelbare schwere kardiovaskuläre Komplikationen auf. Pathophysiologisch beruht dies - neben der Plättchenaggregation - auf einer akuten überschießenden immunologischen Reaktion, die zur Ruptur atherosklerotischer Plaques und letztendlich zu Gefäßverschlüssen führt. Somit sind diese Patienten prädestiniert für eine sofortige immunmodulatorische Therapie. Die in dieser Studie präsentierten Daten demonstrieren deutlich, dass die Therapie mit Rosuvastatin bei Patienten mit akutem Koronarsyndrom zu einem schnellen antiinflammatorischen Effekt - innerhalb von 24 Stunden - führt. Dies wird durch die sofortige Verminderung der zirkulierenden proinflammatorischen Zytokine IL-6, TNF- α , und IFN- γ verdeutlicht. Die meisten inflammatorischen Zytokine leiten sich entweder von Gefäßzellen, Monozyten oder Lymphozyten ab. Um genauere Einsichten in die Wirkungsmechanismen zu gewinnen, wurde die induzierbare Zytokinexpression in Monozyten und Lymphozyten bewertet. Während Rosuvastatin keinen signifikanten Effekt auf Monozyten zeigte, wurden die TNF- α - und IFN- γ -Expression in Lymphozyten stark vermindert, was darauf schließen lässt, dass Statine vor allem die adaptive Immunantwort bei Patienten mit akutem Koronarsyndrom beeinflussen. In Übereinstimmung mit diesen Ergebnissen war auch die Th1-Antwort, die als IFN- γ -Expression in T-Helferzellen bemessen wurde, vermindert. Wohingegen kein Einfluss auf antiinflammatorische Zytokine wie z.B. IL-4 oder IL-10, die das Immunsystem in einen weniger aggressiven Zustand versetzen, bestand.

Es ist anzunehmen, dass diese antiinflammatorischen Eigenschaften von klinischem Nutzen sind. So zeigten klinische Studien wie MIRACL und PROVE-IT-TIMI-22, dass Patienten mit akutem Koronarsyndrom von einer Statintherapie profitieren (12, 13).

Allerdings ist nicht bekannt, inwiefern dies auf der Lipidsenkung oder auf sogenannten pleiotropischen, lipidunabhängigen Effekten von HMG-CoA-Reduktase-Inhibitoren beruht. Von großem Interesse war die Erkenntnis, dass die antiinflammatorische Wirkung innerhalb von 24 Stunden auftrat, und das Ausmaß dieser Antiinflammation im Verlauf der sechswöchigen Untersuchung nicht wesentlich zunahm. Am wichtigsten ist hierbei, dass der schnelle Effekt sich nach der Einnahme einer einzigen Tablette und ohne eine entsprechende Änderung der Fettwerte im Plasma zeigte. Signifikante Verminderungen des Gesamt- und LDL-Cholesterins kamen erst nach 72 Stunden hinzu. Daher erscheint es wahrscheinlich, dass die aufgezählten Einflüsse auf inflammatorische Zellen unabhängig von den lipidsenkenden Eigenschaften der Statine auftreten.

Diese Ergebnisse stimmen mit denjenigen einer kürzlich veröffentlichten Studie überein, bei der schon nach 24-stündiger Behandlung ein günstiger Effekt von Statinen auf die endotheliale Funktion bei Patienten mit koronarer Herzerkrankung gefunden wurde (34).

Die vorliegende Studie zeigt zum ersten Mal bei Patienten mit akutem Koronarsyndrom, dass Statine die Immunantwort von T-Zellen durch eine Downregulation proinflammatorischer intrazellulärer Zytokine und durch Unterdrückung der Th1-Antwort inhibieren, wobei es eher zu einer Beeinflussung der adaptiven T-lymphozytären Immunität als der Monozyten kommt. Diese Effekte treten schnell - innerhalb von 24 Stunden - und unabhängig von der Lipidsenkung auf. Demnach sollte eine Therapie mit Statinen - unabhängig von den dabei bestehenden Lipidwerten im Plasma - zur initialen Behandlung des akuten Koronarsyndrom gehören, bis die antioxidativen und antiinflammatorischen Effekte dieser Substanzen potenziell der wohl bekannten Verminderung kardiovaskulärer Ereignisraten unterliegen.

5. Zusammenfassung

Das akute Koronarsyndrom (ACS) wird durch intensive proinflammatorische Ereignisse innerhalb der Gefäßwand hervorgerufen, die zur Aktivierung von Blutplättchen und Koagulationsprozessen führen. HMG-CoA-Reduktase-Inhibitoren (Statine) reduzieren die kardiovaskuläre Mortalität und Morbidität sowohl bei Patienten mit stabiler Angina pectoris als auch beim ACS. Es ist jedoch unklar, wie es zu den unmittelbaren günstigen Effekten von Statinen bei Patienten mit ACS kommt und ob diese Eigenschaften im Zusammenhang mit der Lipidsenkung stehen. Patienten mit Troponin-positivem ACS (n=35) wurden in 2 Gruppen randomisiert. Über einen Zeitraum von 6 Wochen erhielt eine Gruppe 20mg Rosuvastatin, die andere Placebo. Das Hauptziel der vorliegenden Studie war die Beurteilung der antiinflammatorischen Effekte von Rosuvastatin, bemessen an intraplasmatischen Zytokinpiegeln (IL-6, TNF- α , IFN- γ , IL-4, IL-10) sowie an der intrazellulären monozytären und lymphozytären Zytokinproduktion. Die Messungen wurden vor Behandlungsbeginn sowie am 1., 3. und 42. Behandlungstag durchgeführt. Im Vergleich zu Placebo führte die Rosuvastatintherapie innerhalb von 24 Stunden zu einer signifikanten Verminderung der Plasmakonzentrationen der proinflammatorischen Zytokine TNF- α und IFN- γ . Darüber hinaus induzierte Rosuvastatin im selben Zeitraum einen schnellen und signifikanten Abfall der TNF- α - und IFN- γ -Produktion in stimulierten T-Lymphozyten. Die monozytäre Zytokin-Expression blieb allerdings von der Statintherapie unbeeinflusst. Die Plasmaspiegel von IL-6 und CRP sanken im Verlauf der Untersuchung, wobei sich keine Unterschiede zwischen beiden Gruppen ergaben. Die Plasmaspiegel der antiinflammatorischen Zytokine IL-4 und IL-10 blieben ebenfalls unverändert. Im Gegensatz zu Placebo inhibierte Rosuvastatin die Th1-Immunantwort innerhalb von 24 Stunden. Hervorzuheben ist, dass sich signifikante Änderungen des Gesamt- und LDL-Cholesterins erst 72 Stunden nach Behandlungsbeginn ergaben. Zusammenfassend ist festzustellen, dass Rosuvastatin schnelle, lipidunabhängige, immunmodulatorische Effekte bei Patienten mit ACS ausübt, insbesondere auf der Ebene der T-Zell-Aktivierung.

6. Literaturverzeichnis

1. Brown MS, Goldstein JL. How LDL receptors influence cholesterol and atherosclerosis. *Sci Am* 1984;251(5):58-66.
2. Ross R. The pathogenesis of atherosclerosis: a perspective for the 1990s. *Nature* 1993;362(6423):801-809.
3. Lusis AJ. Atherosclerosis. *Nature*. 2000; 407: 233-241.
4. Libby P, Ridker PM, Maseri A. Inflammation and atherosclerosis. *Circulation*. 2002; 105: 1135–1143.
5. Ross R. Atherosclerosis: an inflammatory disease. *N Engl J Med*. 1999; 340: 115–126.
6. Liuzzo G, Goronzy JJ, Yang H, Kopecky SL, Holmes DR, Frye RL, Weyand CM. Monoclonal T-cell proliferation and plaque instability in acute coronary syndromes. *Circulation*. 2000; 101: 2883-2888.
7. Liuzzo G, Angiolillo DJ, Buffon A, Rizello V, Colizzi C, Ginnetti F, Biasucci LM, Maseri A. Enhanced response of blood monocytes to in vitro lipopolysaccharide-challenge in patients with recurrent unstable angina. *Circulation*. 2001; 103: 2236-2241.
8. Weyand CM, Goronzy JJ, Liuzzo G, Kopecky SI, Holmes Dr Jr, Frye RL. T-cell immunity in acute coronary syndromes. *Mayo Clin Proc*. 2001; 76: 1011-1020.
9. Soejima H, Irie A, Miyamoto S, Kajiwara I, Kojima S, Hokamaki J, Sakamoto T, Tanaka T, Yoshimura M, Nishimura Y, Ogawa H. Preference toward a T-helper type 1 response in patients with coronary spastic angina. *Circulation*. 2003; 107: 2196-2200.
10. Ridker PM, Cushman M, Stampfer MJ, Tracy RP, Hennekens CH. Inflammation, aspirin and the risk of cardiovascular disease in apparently healthy men. *N Engl J Med* 1997;3336:873-979
11. Ridker PM, Rifai N, Pfeffer MA, Sacks F, Braunwald E. Long-term effects of pravastatin on plasma concentration of C-reactive protein. The Cholesterol and Recurrent Events (CARE) Investigators. *Circulation*. 1999; 100: 230-235.
12. Schwartz GG, Olsson AG, Ezekowitz MD, Ganz O, Oliver MF, Waters D, Zeiher A, Chaitman BR, Leslie S, Stern T, . Effects of atorvastatin on early recurrent ischemic events in acute coronary syndromes: the MIRACL study: a randomized controlled trial. *JAMA*. 2001; 285:1711-1718.

13. Cannon CP, Braunwald E, McCabe CH, Rader DJ, Rouleau JL, Belder R, Joyal SV, Hill KA, Pfeffer MA, Skene AM; Intensive versus moderate lipid lowering with statins after acute coronary syndromes. *N Engl J Med.* 2004; 350:1495-1504.
14. Weitz-Schmidt G, Welzenbach K, Brinkmann V, Kamata T, Kallen J, Bruns C, Cottens S, Takada Y, Hommel U. Statins selectively inhibit leukocyte function antigen-1 by binding to a novel regulatory integrin site. *Nat Med.* 2001; 7: 687-692.
15. Aikawa M, Rabkin E, Sugiyama S, Voglic SJ, Fukumoto Y, Furukawa Y, Shiomi M, Schoen FJ, Libby P. An HMG-CoA reductase inhibitor, cerivastatin, suppresses growth of macrophages expressing matrix metalloproteinases and tissue factor in vivo and in vitro. *Circulation.* 2001; 103: 276-283.
16. Kwak B, Mulhaupt F, Myit S, Mach F. Statins as a newly recognized type of immunomodulator. *Nat Med.* 2000; 6: 1399-1402.
17. Mach F. Statins as immunomodulatory agents. *Circulation.* 2004; 109 (21 Suppl 1): II15-II17.
18. Blanco-Colio LM, Munoz-Garcia B, Martin-Ventura JL, Lorz C, Diaz C, Hernandez G, Egido J. 3-Hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase inhibitors decrease Fas ligand expression and cytotoxicity in activated human T lymphocytes. *Circulation.* 2003; 108: 1506-1513.
19. Hakamada-Taguchi R, Uehara Y, Kuribayashi K, Numabe A, Saito K, Negoro H, Fujita T, Toyooka T, Kato T. Inhibition of hydroxymethylglutaryl-coenzyme A reductase reduces Th1 development and promotes Th2 development. *Circ Res.* 2003; 93: 948-956.
20. Ghittoni R, Patrussi L, Pirozzi K, Pellegrini M, Lazzerini PE, Capecchi PL, Pasini FL, Baldari CT. Simvastatin inhibits T-cell activation by selectively impairing the function of Ras superfamily GTPases. *FASEB.* 2005; 19: 605-607
21. Scandinavian Simvastatin Study Group. Randomised trial of cholesterol lowering in 4444 patients with coronary heart disease: the Scandinavian Simvastatin Survival Study (4S). *Lancet.* 1994; 344: 1383-1389.
22. Sacks FM, Pfeffer MA, Moye LA, Rouleau JL, Rutherford JD, Cole TG, Brown L, Warnica JW, Arnold JM, Wun CC, Davis BR, Braunwald E. The effect of pravastatin on coronary events after myocardial infarction in patients with

- average cholesterol levels. Cholesterol and Recurrent Events Trial investigators. *N Engl J Med.* 1996; 335: 1001-1009.
23. The Long-Term Investigation with Pravastatin in Ischaemic Disease (LIPID) Study Group. Prevention of cardiovascular events and death with pravastatin in patients with coronary heart disease and a broad range of initial cholesterol levels. *N Engl J Med.* 1998; 339: 1349-1357.
24. Heart Protection Study Collaborative Group. MRC/BHF Heart Protection Study of cholesterol lowering with simvastatin in 20,536 high-risk individuals: a randomised placebo-controlled trial. *Lancet.* 2002; 360: 7-22.
25. Goldstein JL, Brown MS. Regulation of the mevalonate pathway. *Nature.* 1990; 343: 425-430.
26. Dimmeler S, Fleming I, Fisslthaler B, Hermann C, Busse R, Zeiher AM. Activation of nitric oxide synthase in endothelial cells by Akt-dependent phosphorylation. *Nature.* 1999; 399: 601-605.
27. Kureishi Y, Luo Z, Shiojima I, Bialik A, Fulton D, Lefer DJ, Sessa WC, Walsh K. The HMG-CoA reductase inhibitor simvastatin activates the protein kinase Akt and promotes angiogenesis in normocholesterolemic animals. *Nat Med.* 2000; 6: 1004-1010.
28. Dimmeler S, Aicher A, Vasa M, Mildner-Rihm C, Adler K, Tiemann M, Rutten H, Fichtlscherer S, Martin H, Zeiher AM. HMG-CoA reductase inhibitors (statins) increase endothelial progenitor cells via the PI 3-kinase/Akt pathway. *J Clin Invest.* 2001; 108: 391-397
29. Ridker PM, Hennekens CH, Buring JE, Rifai N. C-Reactive Protein and Other Markers of Inflammation in the prediction of Cardiovascular Disease in Women. *N Engl J Med.* 2000; 342: 836-43.
30. Ridker PM, Rifai N, Clearfield M, Downs JR, Weis SE, Miles JS, Gotto Am Jr; Air Force/Texas Coronary Atherosclerosis Prevention Study Investigators. Measurement of C-reactive protein for the targeting of statin therapy in the primary prevention of acute coronary events. *N Engl J Med.* 2001; 344: 1959-1965.
31. Azuma RW, Suzuki J, Ogawa M, Futamatsu H, Koga N, Onai Y, Kosgue H, Isobe M. HMG-CoA reductase inhibitor attenuates experimental autoimmune myocarditis through inhibition of T cell activation. *Cardiovasc Res.* 2004; 64: 412-420.

32. Hori A, Kanda Y, Goyama S, Onishi Y, Komeno Y, Mitani K, Kishi Y, Ogawa S, Imataki O, Chiba S, Kojima R, Hamaki T, Sakiyama M, Kami M, Makimoto A, Tanosaki R, Takaue Y, Hirai H, Japan Hematology and Oncology Clinical Study Group. A prospective trial to evaluate the safety and efficacy of pravastatin for the treatment of refractory chronic graft-versus-host disease. *Transplantation*. 2005; 79: 372-374
33. Shimada K, Miyauchi K, Daida H. Early intervention with atorvastatin modulates TH1/TH2 imbalance in patients with acute coronary syndrome: from bedside to bench. *Circulation* 2004; 109:e213-e214.
34. Wassmann S, Faul A, Hennen B, Scheller B, Böhm M, Nickenig G. Rapid effect of 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme a reductase inhibition on coronary endothelial function. *Circ Res* 2003; 93:e98-e103.

8. Vorabveröffentlichungen

Während der vorgelegten Dissertation entstandene Publikation:

Link A, Ayadhi T, Böhm M, Nickenig G.: Rapid immunomodulation by rosuvastatin in patients with acute coronary syndrome. EHJ 2006 27: 2945-2955.

9. Lebenslauf

Persönliche Information

Name: Ayadhi
Vorname: Tarek
Staatsangehörigkeit: deutsch
Geburtsdatum: 09.03.1979
Geburtsort: Saarbrücken
Familienstand: ledig

Schulische Ausbildung

1985 – 1990 Deutsch-französische Grundschule Saarbrücken
1990 – 1997 Deutsch-französisches Gymnasium Saarbrücken
1997 Deutsch-französisches Abitur

Ersatzdienst

1997-1998 Zivildienst im Jugendzentrum Eschberg Saarbrücken

Universitäre Ausbildung

1998 – 2006 Studium der Humanmedizin, Universität des Saarlandes
8' 2000 Ärztliche Vorprüfung
3' 2002 1. Staatsexamen
8' 2004 2. Staatsexamen
5' 2006 Ärztliche Prüfung

Beruf

Seit 9' 2006 Assistenzarzt, Onkologie,
Caritasklinik St. Theresia Saarbrücken